

University of Groningen

## Monoclonale antilichamen in diagnose en therapie van patienten met kanker

Boven, E.; Haisma, H.J.; Pinedo, H.M.

*Published in:*  
Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
1995

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Boven, E., Haisma, H. J., & Pinedo, H. M. (1995). Monoclonale antilichamen in diagnose en therapie van patienten met kanker. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 139(49), 2552-2558.  
<https://www.ntvg.nl/artikelen/monoklonale-antilichamen-voor-diagnostiek-en-therapie-bij-de-oncologische-pati%C3%ABnt/volledig>

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

# Monoklonale antilichamen voor diagnostiek en therapie bij de oncologische patiënt

E. BOVEN, H.J. HAISMA EN H.M. PINEDO

Het is inmiddels 20 jaar geleden dat Köhler en Milstein de technologie beschreven voor de ontwikkeling van monoklonale antilichamen.<sup>1</sup> Deze ontdekking heeft terecht geleid tot de toekenning van de Nobelprijs aan deze beide onderzoekers in 1984.<sup>2</sup> Binnen de oncologie valt de toepassing van monoklonale antilichamen bij het stellen van de diagnose en bij het volgen van het ziektebeloop niet meer weg te denken. Evenals 10 jaar geleden lijkt het ons een geschikt moment om de stand van zaken te beschrijven en in te gaan op de ontwikkelingen in de bijdrage van monoklonale antilichamen aan het karakteriseren en het lokaliseren van tumorweefsel en aan de behandeling van de oncologische patiënt (tabel).<sup>3</sup>

## MONOKLONALE ANTILICHAMEN

Tumorcellen onderscheiden zich in meerdere opzichten van normale cellen en lenen zich bij uitstek voor het opwekken van monoklonale antilichamen tegen zogenoemde tumorgeassocieerde antigenen.<sup>4,6</sup> Deze antigenen zijn meestal niet tumorspecifiek, maar komen bij maligne cellen in een hogere concentratie voor dan bij normale cellen. De meeste tumorgeassocieerde antigenen hebben de volgende eigenschappen: het antigeen kan bij verschillende tumorsoorten vóórkomen; binnen een bepaalde vorm van kanker zal het antigeen niet door alle tumorcellen tot expressie worden gebracht; meestal kan het antigeen in de primaire tumor en de metastasen worden aangetoond.

Monoklonale antilichamen wekt men in het algemeen op bij muizen door deze dieren te injecteren met intacte tumorcellen, een celmembraanhomogenaat of geïsoleerde antigenen. De antilichaamproducerende B-cellen van deze muis worden geïmmortaliseerd door fusie met een geschikte myeloma-celijn in kweekmedium. Door selectie worden hybridoma's verkregen die het gewenste antilichaam produceren. Deze hybridoma's worden geklooneerd, waarna de produktie van het immunoglobuline op gang wordt gebracht.

Inmiddels heeft de recombinant-DNA-technologie er toe geleid dat tal van eigenschappen van het immunoglobulinemolecuul kunnen worden gewijzigd. Een belangrijke verbetering is de produktie van chimerische moleculen, waarbij het variabele, antigeenherkende, deel van het muizeantilichaam wordt gekoppeld aan het

constante deel van een humaan immunoglobuline.<sup>5,7</sup> Dit produkt zal bij toediening aan de patiënt minder aanleiding geven tot een afweerreactie.

De ontwikkeling van monoklonale antilichamen heeft erin geresulteerd dat een aanzienlijk aantal nieuwe tumorgeassocieerde antigenen is geïdentificeerd.<sup>6</sup> Tevens zijn antilichamen ontwikkeld tegen verschillende epitopen op hetzelfde antigeen. Voorbeelden hiervan zijn de vele immunoglobulinen die gericht zijn tegen het carcino-embryonaal antigeen (CEA)<sup>8</sup> en het Ep-CAM-antigeen.<sup>9</sup>

## IMMUNOHISTOCHEMIE EN -FLUORESCENTIE

De detectie van tumorgeassocieerde antigenen in tumorweefsel of bij maligne cellen heeft de patholoog en de hematoloog grote mogelijkheden gegeven tot het verbeteren en het verfijnen van de diagnose. Methoden die hiervoor ter beschikking staan zijn de immunohistochemie, de -cytochemie en de immunofluorescentie, bijvoorbeeld met behulp van de 'fluorescence-activated cell sorter' (FACS), een apparaat dat in staat is individuele cellen in een suspensie van elkaar te onderscheiden.<sup>4,6</sup>

Vooraf bij metastasen van een primaire tumor zonder duidelijke oorsprong kunnen monoklonale antilichamen uitkomst bieden. Bij een adenocarcinoom zal de aanwezigheid van CEA kunnen duiden op een oorsprong in het maag-darmkanaal en in het bijzonder in het colon.<sup>10</sup> Aankleuring van CA 125 met het antilichaam OC 125 doet de aanwezigheid van een ovariumcarcinoom vermoeden.<sup>11</sup> Er moet echter steeds rekening worden gehouden met adenocarcinomen ontstaan in een ander orgaan, zoals de mamma of de long, die soms CEA of CA 125 tot expressie brengen. Wanneer ongedifferentieerd maligne weefsel wordt gevonden kunnen monoklonale antilichamen eveneens richting aan de diagnostiek geven. Voor melanoom, weke-delensarcoom, maligne lymfoom en carcinoom zijn goede markers ontwikkeld en deze hebben nadere identificatie door middel van elektronenmicroscopie nogal eens overbodig gemaakt.

Het verfijnen van de diagnose van maligne lymfomen en leukemieën met behulp van monoklonale antilichamen heeft geleid tot het karakteriseren van tal van 'cluster of differentiation' (CD)-antigenen wat betreft hun plaats in de ontogenese en hun functie als celmembraanmoleculen.<sup>12,13</sup> De classificatie van hematologische maligniteiten heeft het instellen van specifieke behandelingen per patiëntencategorie bevorderd. De internationale afspraken vereenvoudigen het vergelijken van nieuwe behandelingen en bieden de mogelijkheid in volgend kli-

Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit, afd. Geneeskundige Oncologie, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam.

Mw.dr.E.Boven en prof.dr.H.M.Pinedo, internisten-oncologen; dr.H.J. Haisma, bioloog.

Correspondentie-adres: mw.dr.E.Boven.

*diagnostiek*

immunohistochemie en -fluorescentie voor de detectie van tumorcellen en de classificatie van tumoren  
analyse van tumormerkstoffen in lichaamsvloeistoffen  
radio-immunolokalisatie van tumorweefsel bij de patiënt

*behandeling*

immunoconjugaten  
passieve monoklonale-antilichamentherapie  
remming van groeifactoren  
vaccins bestaande uit monoklonale anti-idiotypen-antilichamen  
ex vivo-'purgings' van beenmerg\*

\*Dat is het beenmerg vrijmaken van tumorcellen.

nisch onderzoek de resultaten te verbeteren. Ook bij solide tumorsoorten worden monoklonale antilichamen gebruikt bij het vaststellen van het behandelbeleid. Zo is bij mammacarcinoom de biochemische bepalingsmethode voor de detectie van oestrogeenreceptoren in steeds meer laboratoria vervangen door de immunohistochemische.

Monoklonale antilichamen zijn ook nuttig om de uitgebreidheid van ziekte vast te stellen. De kans is immers groot dat metastasen dezelfde tumorgeassocieerde antigenen tot expressie brengen als de primaire tumor. Afwijkingen in aangrenzende lymfklieren kunnen worden opgespoord, ook wanneer het om maar enkele tumorcellen gaat. Steeds vaker worden tumorresten verwijderd na voorbehandeling met chemotherapie. In dit veelal necrotische en fibrotische weefsel kunnen kleine gebieden van vitale tumorcellen met immunohistochemisch onderzoek beter worden herkend.

Bepaalde tumorgeassocieerde antigenen kunnen van prognostische betekenis zijn. Als voorbeeld dient de aanwezigheid van een gemuteerd *p53*-suppressorgen, dat samenhangt met agressieve tumor groei, vroege metastasering en een geringer 5-jaarsoverlevingspercentage.<sup>14</sup>

TUMORMERKSTOFFEN

Reeds in 1846 werd de eerste tumormerkstof aangetoond: H. Bence Jones beschreef het ontstaan van een precipitaat na aanzuren van de urine van een patiënt met 'mollities ossium', nu bekend als de ziekte van Kahler. Pas de laatste 30 jaar wordt veel aandacht besteed aan de aanwezigheid van tumormerkstoffen die van waarde kunnen zijn bij het stellen van de diagnose, maar ook bij het volgen van het ziektebeloop. Deze merkstoffen kunnen worden beschouwd als tumorgeassocieerde antigenen die afkomstig zijn van tumorcellen en in lichaamsvloeistoffen worden aangetroffen.<sup>15 16</sup> In eerste instantie werd gebruik gemaakt van polyklonale antisera, zoals voor het aantonen van CEA, humaan choriongonadotrofine (hCG) en  $\alpha$ -foetoproteïne (AFP). De hybridomatechnologie heeft geleid tot de introductie van specifiekere antilichamen tegen deze merkstoffen en tot de ontwikkeling van commercieel verkrijgbare testsystemen. Deze testsystemen zijn vereenvoudigd doordat de radioactieve methode (radio-immunoassay; RIA) is ver-

vangen door detectie van merkstoffen met een enzymatische kleurreactie ('enzyme-linked immunosorbent assay'; ELISA) en doordat de handelingen geautomatiseerd kunnen worden uitgevoerd. Globaal kunnen tumormerkstoffen in een aantal groepen worden ingedeeld: oncofoetale antigenen, de tumorgeassocieerde mucinen en andere antigenen.<sup>15</sup>

Een ideale tumormerkstof zou een substantie moeten zijn die normaliter niet in het bloed voorkomt en die reeds te meten is bij een minimale hoeveelheid tumorweefsel (hoge sensitiviteit). De merkstof zou bij een niet-maligne ziekte niet aanwezig moeten zijn en elke tumorsoort zou een andere merkstof tot expressie moeten brengen (hoge specificiteit). Tevens zou in de ideale situatie de verandering in de concentratie van de merkstof een nauwkeurige indruk moeten geven van progressie of regressie van de ziekte. Zulke tumormerkstoffen zijn schaars, omdat de tumorgeassocieerde antigenen een kwantitatieve overexpressie zijn van antigenen die ook in normaal weefsel kunnen voorkomen. De komende jaren zal meer informatie beschikbaar komen over eiwitveranderingen die genmutaties en -translocaties teweegbrengen, zoals het produkt van het gemuteerde *p53*-gen.<sup>14</sup> Wellicht kunnen dan ook zeer specifieke tumormerkstoffen in de circulatie worden aangetoond.

*Oncofoetale antigenen.* Oncofoetale antigenen, zoals AFP en CEA, zijn slechts aanwezig tijdens de intra-uteriene periode, maar kunnen bij herstelsituaties of bij maligne aandoeningen in de organen van herkomst opnieuw tot expressie worden gebracht, waarbij de concentratie in het bloed wordt verhoogd.<sup>15</sup> Bekende maligniteiten met AFP-verhogingen zijn niet-seminoom van de testis en maligne hepatoom. CEA-verhoging komt vooral voor bij adenocarcinomen van het maag-darmkanaal en vooral die van het colon en het rectum.

*Tumorgeassocieerde mucinen.* Van de tumorgeassocieerde mucinen die in het bloed kunnen worden aangetoond zijn CA 19-9, CA 15-3 en CA 125 momenteel voor de kliniek de belangrijkste.<sup>15 16</sup> De concentratie van CA 19-9 kan verhoogd zijn bij pancreascarcinoom en andere gastro-intestinale adenocarcinomen. CA 15-3 is vooral bekend door koppeling met mammacarcinoom, maar kan ook worden aangetroffen bij adenocarcinomen van het ovarium en de long. CA 125, ten slotte, hangt samen met ovariumcarcinoom van het sereuze en het endometrioïde type, maar de concentratie kan ook verhoogd zijn bij mamma- en long(adeno)carcinoom en zelfs bij benigne ovariumaandoeningen.<sup>11</sup>

*Andere antigenen.* Andere antigenen die in de kliniek worden gebruikt als tumormerkstof zijn PSA, de nieuwe cytokeratinemerkstoffen 'tissue'-polypeptide-antigeen (TPA) en CYFRA 21-1, en het 'squamous cell carcinoma'-antigeen (SCC).<sup>15 16</sup> PSA is specifiek voor prostaatweefsel en de concentratie is meestal verhoogd bij patiënten met prostaatacarcinoom. Verhoogde concentraties kunnen ook worden aangetroffen bij benigne prostaathypertrofie en acute prostatitis. Het TPA en het CYFRA 21-1 zijn niet specifiek voor een bepaalde tumorsoort, maar beide zijn tamelijk gevoelige merkstoffen bij het volgen van het ziektebeloop, zoals respectie-

velijk bij blaascarcinoom,<sup>17</sup> en bij longcarcinoom.<sup>18</sup> Het SCC kan vooral van waarde zijn bij plaveiselcelcarcinomen van de cervix, de bronchus en de hoofd-halsregio. Ten slotte moet nog worden gemeld dat bij een aantal grootcellige lymfomen het CD30-antigeen in de circulatie kan worden aangetoond; dit kan worden gebruikt bij het volgen van het ziektebeloop.<sup>19</sup>

De klinische waarde van tumormerkstoffen wordt vooral bepaald door de sensitiviteit en de specificiteit en ze hangt mede af van de drempelconcentratie waarmee men onderscheid maakt tussen een positieve en een negatieve testuitslag. De meeste merkstoffen zijn niet geschikt voor toepassing in een screeningsprogramma. Alleen hCG voor het vroegtijdig herkennen van choriocarcinoom bij vrouwen na een molazwangerschap alsmede AFP en hCG bij recidieftestiscarcinoom zijn bij deze screening van waarde.<sup>15 16</sup> Is een maligniteit vastgesteld, dan zijn serologische bepalingen van tumormerkstoffen van betrekkelijk weinig waarde als aanvulling op de diagnose. Zo zal bij ziekte van beperkte omvang de concentratie van CA 19-9 en ook die van CA 15-3 in slechts 30% van de gevallen verhoogd zijn. Bij verhoogde concentraties van bijvoorbeeld CA 15-3 en SCC bestaat echter een significante correlatie met de aanwezigheid van metastasen bij respectievelijk mammacarcinoom en cervixcarcinoom.<sup>16</sup> De grootste waarde moet worden toegeschreven aan tumormerkstoffen die het volgen van het ziektebeeld tijdens de behandeling mogelijk maken. Worden concentraties als gevolg van de behandeling normaal, dan kan dit serologische onderzoek in de follow-up-periode een nuttige toevoeging zijn om recidivering van ziekte vroegtijdig te herkennen.

#### RADIO-IMMUNOLOKALISATIE

Tumorgeassocieerde antigenen kunnen, vooral wanneer deze op de celmembraan voorkomen, worden aangewend om tumorlokalisaties bij de patiënt op te sporen. Daartoe wordt het monoklonale antilichaam aan een radionuclide gekoppeld, dit radio-immunoconjugaat wordt aan de patiënt toegediend en na verloop van tijd worden één of meerdere nucleaire scans gemaakt. De tumorlokalisaties kunnen in beeld worden gebracht wanneer er een positieve ratio bestaat tussen de 'counts' op de plaats van de tumor en de counts van het omgevende normale weefsel en (of) de circulatie. Niet-specifieke opname kan optreden in het reticulo-endotheliale systeem van de milt en de lever (daar worden de toegediende antistoffen afgebroken). Andere problemen vormen de radioactieve afbraakprodukten die kunnen worden aangetroffen in de urine en in het maag-darmkanaal en het soms optreden van een kruisreactie van de toegediende antistoffen met normaal weefsel.

In de afgelopen jaren is veel klinisch onderzoek verricht naar radio-immunolokalisatie. Op de volgende drie onderdelen zijn meerdere verbeteringen aangebracht die moeten leiden tot optimale detectie: de keuze van het radionuclide en van het antilichaam en de techniek voor visualisatie.<sup>5 6</sup>

**Radionuclide.** De vier belangrijkste radionucliden met  $\gamma$ -emissie die worden toegepast zijn <sup>131</sup>I, <sup>123</sup>I, <sup>111</sup>In en <sup>99m</sup>Tc.

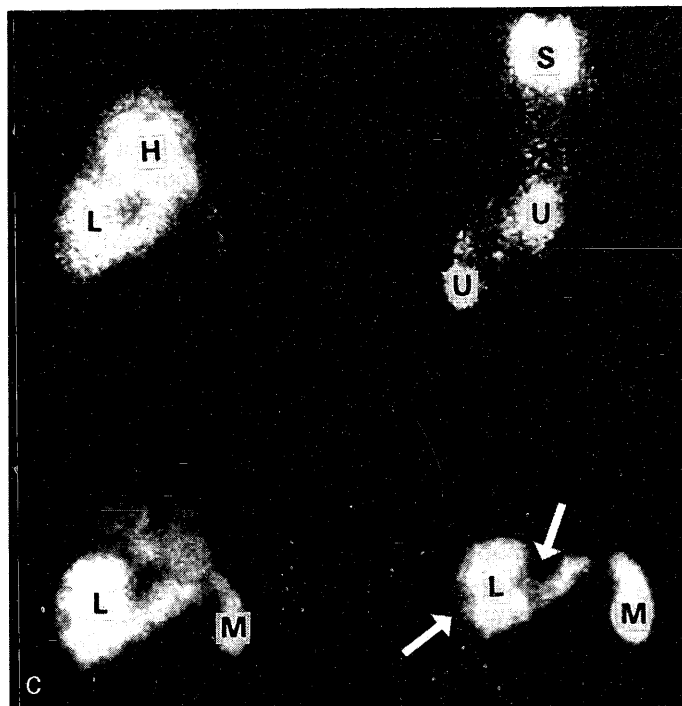
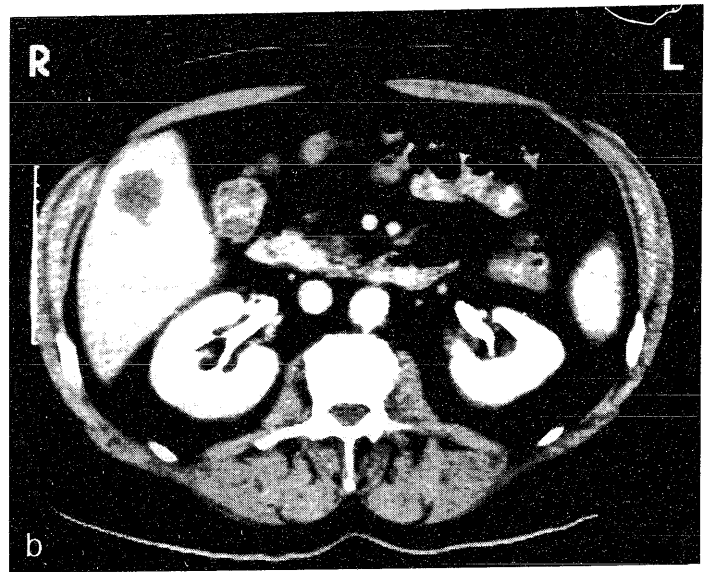
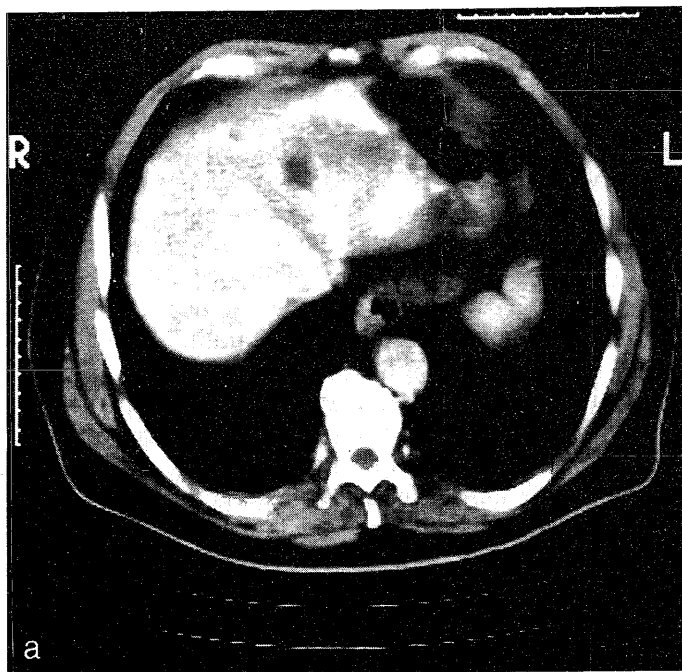
<sup>99m</sup>Tc lijkt het geschiktste radionuclide vanwege de hoge energetische intensiteit van de fotonen, de goede beschikbaarheid en de gunstige prijs, maar het heeft slechts een korte fysische halfwaardetijd: 6 h. Scans moeten binnen 24 h na injectie worden gemaakt, een tijdsperiode waarbinnen het radio-immunoconjugaat de circulatie nog niet geheel heeft verlaten. <sup>131</sup>I en <sup>111</sup>In hebben een langere fysische halfwaardetijd: respectievelijk 8 dagen en 68 h, waardoor scans ook op latere tijdstippen kunnen worden gemaakt. <sup>131</sup>I en <sup>123</sup>I hebben het nadeel dat dehalogenatie van het conjugaat optreedt. <sup>111</sup>In is moeilijker te verkrijgen en wordt als conjugaat ook door normaal leverweefsel opgenomen, hetgeen detectie van levermetastasen bemoeilijkt. Bij elk der radionucliden is aandacht besteed aan de verbetering van de labelingmethode, vooral met het doel de achtergrondactiviteit te verminderen.

**Antilichaam.** Het antilichaam dat gebruikt wordt voor radio-immunolokalisatie is bij voorkeur gericht tegen een antigeen dat in voldoende mate op de celmembraan tot expressie komt, dat bij het grootste aantal cellen positief is en dat bij de meerderheid van de patiënten met een bepaalde tumorsoort wordt aangetroffen. Om een snelle klaring uit de circulatie te bewerkstelligen past men in plaats van het intacte immunoglobulinemolecuul ook antilichaamfragmenten toe: F(ab')<sub>2</sub>, Fab' en Fab. Met deze fragmenten is ook de achtergrondactiviteit in het reticulo-endotheliale systeem minder hinderlijk.

**Visualisatie.** De nucleaire techniek om het radionuclide in het lichaam te detecteren is verbeterd. Steeds meer wordt gebruik gemaakt van 'single photon emission computerized tomography' (SPECT). Ook wordt de zogenoemde gamma-probe gebruikt om durante operatione kleine metastasen op te sporen. Immunolymfoscintigrafie biedt de mogelijkheid om lymfkliermetastasen op te sporen; hierbij wordt het gelabelde antilichaam subcutaan of intramucosaal in het lymfdrainagegebied ingespoten.

De klinische toepassing van radio-immunolokalisatie als routineprocedure is zeer beperkt.<sup>6</sup> Deze diagnostische methode is wel voldoende veilig voor de patiënt, maar bij aangetoonde ziekte kan slechts 60-90% der bekende lokalisaties met radioactief gelabelde monoklonale antilichamen worden gevisualiseerd. Het is moeilijk om tumoren kleiner dan 1,0-2,0 cm in beeld te brengen. Derhalve moet radio-immunolokalisatie eerder worden beschouwd als een aanvulling op bestaande diagnostische methoden, zoals computertomografie (CT) en kernspinresonantie-tomografie (MRI), dan als een vervanging.

Een ander probleem vormt de ontwikkeling van humane anti-muizeantilichamen bij de patiënt als afweerreactie op het geïnjecteerde radio-immunoconjugaat.<sup>5 6</sup> Deze immunologische respons treedt minder vaak op bij gebruik van antilichaamfragmenten en bij chimerische antilichamen. Onze groep onderzoekers heeft radio-immunolokalisatie uitgevoerd met een antilichaam van humane oorsprong dat een intracellulair antigeen bij coloncarcinoom herkent.<sup>20 21</sup> Met dit radio-immunoconjugaat,



Computertomogrammen van een patiënt met levermetastasen van een coloncarcinoom (a, b); radio-immunolocalisatie van deze metastasen met  $^{131}\text{I}$ -r6.88 (c). Figuur c toont linksboven het hart (H) en de lever (L), waarin een opheldering, vlak na injectie met  $^{131}\text{I}$ -r6.88; rechtsboven zijn de schildklier (S) en meerdere levermetastasen (U) te zien 7 dagen na injectie met  $^{131}\text{I}$ -r6.88; linksonder en rechtsonder zijn lever (L)- en milt (M)-opnamen te zien met respectievelijk  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO (dat is  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hexametaïne) en  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -colloïd, met uitsparingen in de lever ter plaatse van de metastasen (pijlen; vergelijk met afbeelding a).

$^{131}\text{I}$ -r6.88, werd geen immunologische respons waargenomen. Van alle bekende lokalisaties kon 55% worden gevisualiseerd, maar tumoren < 3 cm waren niet te detecteren (figuur).

#### BEHANDELING MET IMMUNOCONJUGATEN

Monoklonale antilichamen gericht tegen tumorgeassocieerde antigenen werden beschouwd als 'magic bullets': men zou tumorspecifieke therapie kunnen toepassen door deze antilichamen te gebruiken als dragers van toxische stoffen. Het meeste klinische onderzoek is verricht naar radio-immunotherapie. Ook zijn trials uitgevoerd met cytostatica gekoppeld aan antilichamen, met immunotoxinen en met enzymconjugaten die zogenaamde prodrugs activeren tot actieve antikankermiddelen.<sup>6</sup>

**Radionucliden.** Verschillende radionucliden worden toegepast bij radio-immunotherapie, zoals  $^{131}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Yt}$  en  $^{186}\text{Re}$ .<sup>6 22</sup> Vanwege de afgifte ter plaatse van de tumor dient de radioactieve emissie een heel korte draagafstand te hebben en hoge energie te bezitten. Hiertoe behoren de  $\beta$ -stralen van deze radionucliden.  $^{131}\text{I}$  bezit ook hoogenergetische  $\gamma$ -emissie, hetgeen kan leiden tot schade aan omgevend gezond weefsel. De radionucliden die de nog efficiëntere  $\alpha$ -emissie bezitten, worden om praktische redenen, zoals hun korte fysische halfwaardetijd, nog sporadisch gebruikt. De meeste klinische ervaring is opgedaan met  $^{131}\text{I}$ . De eerste resultaten met  $^{90}\text{Yt}$  hebben aangegeven dat de radio-immunoconjugaten zich op niet-specifieke wijze in beenmerg lokaliseren en aanleiding geven tot myelosuppressie. Radio-immunotherapie met  $^{186}\text{Re}$  bij patiënten bevindt zich in de beginfase.

In het algemeen kan worden gesteld dat met radio-immunotherapie partiële en voorbijgaande remissies bij sommige patiënten zijn waargenomen.<sup>6 22</sup> De hoeveelheid radio-immunoconjugaat die in tumorweefsel terecht komt, is erg klein; de opgenomen hoeveelheid ligt tussen 0,0007% en 0,01% van de geïnjecteerde hoeveelheid antilichamen per gram tumorweefsel. Myelosuppressie vormt vrijwel steeds de dosisbeperkende factor. De hematologische maligniteiten zijn veel gevoeliger voor therapeutische straling dan de solide tumorsoorten. Momenteel is radio-immunotherapie in de kliniek dan ook vooral gericht op patiënten met recidiverende leu-

kemie of lymfoom; er zijn indrukwekkende remissies bereikt, maar die waren van relatief korte duur.<sup>13 22</sup> Klinisch onderzoek bij patiënten met solide tumorsoorten is minder bemoedigend; intraperitoneale toediening van radio-immunoconjugaten bij gemetastaseerd ovariumcarcinoom kan evenwel leiden tot partiële remissies.<sup>6 22</sup> Een belangrijke conclusie is dat radio-immunotherapie aantrekkelijk kan zijn bij de behandeling van kleine tumoren, zoals in geval van minimale resten na operatie.

**Cytostatica.** De koppeling van cytostatica aan monoklonale antilichamen, hetzij covalent, hetzij via een 'linker' of een 'spacer', heeft niet geleid tot grootschalige klinische toepassing.<sup>6</sup> Het nadeel van deze immunoconjugaten is dat het antikankermiddel van de antistof moet loslaten om in de cel schade teweeg te brengen. In het laboratorium is de meeste ervaring opgedaan met antracyclinen; momenteel wordt een klinisch fase I-onderzoek uitgevoerd met aan BR64 gekoppeld doxorubicine.<sup>23</sup> BR64 is een van de weinige antilichamen bij solide tumorsoorten die na binding met het antigeen door de cel worden geïnternaliseerd, zodat doxorubicine intracellulair beschikbaar komt.

**Immunotoxinen.** Toxinen, zoals ricine en *Pseudomonas*-exotoxine, behoren tot een groep zeer potente enzymen die de eiwitsynthese in de cel inactiveren.<sup>24</sup> De B-keten van deze toxinen veroorzaakt binding aan receptoren op de celmembraan, waarna endocytose plaatsvindt, terwijl de A-keten leidt tot schade aan de cel. Deze A-ketens worden gebruikt voor koppeling aan monoklonale antilichamen die worden geïnternaliseerd na binding aan het antigeen. Klinisch onderzoek geeft aan dat deze immunoconjugaten nogal wat bijwerkingen hebben, zoals het zogenoemde capillaire leksyndroom en neurologische toxiciteit.<sup>25</sup> Ook werden humane antilichaamreacties waargenomen tegen het toxine enerzijds en tegen het monoklonale antilichaam anderzijds.

**Enzymen.** Een elegante benadering van een tumorspecifieke therapie is het koppelen van een enzym aan een monoklonaal antilichaam, welk enzym vervolgens een later toegediende inactieve prodrug activeert tot drug.<sup>26 27</sup> De meest gebruikte enzymen zijn  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -lactamase en carboxypeptidase. Aan conventionele cytostatica, zoals antracyclinen, is glucuronzuur, cefalosporine of glutaminezuur gekoppeld, zodat een inactieve prodrug ontstaat. Deze groepen worden door het respectievelijke enzym herkend en afgesplitst. Voordelen van deze methode zijn dat het enzym specifiek in tumorweefsel belandt, dat het antilichaam niet hoeft te internaliseren, dat de prodrug pas wordt toegediend wanneer het enzymconjugaat vrijwel niet meer aantoonbaar is in de circulatie en dat na activering in tumorweefsel ook antigeen-negatieve tumorcellen de drug kunnen opnemen. Optimalisering van dit concept vindt nog steeds plaats in het laboratorium, waarbij wordt getracht enerzijds het enzymconjugaatmolecuul te verkleinen en de immunogeniteit te verminderen en anderzijds een prodrug te ontwikkelen die efficiënt door het enzym wordt geactiveerd. Ook onze onderzoeksgroep heeft rui-

me ervaring met de toepassing van deze 'antibody-directed enzyme prodrug therapy' (ADEPT).<sup>28</sup>

#### ANDERE BEHANDELINGEN

Een aantal monoklonale antilichamen heeft een antikankerwerking via complementgemedieerde cytotoxiciteit (CMC) of door 'antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity' (ADCC), via remming van de proliferatie door directe binding aan tumorcellen of via actieve immunisatie, zoals door een anti-idiotyp vaccin.<sup>5 6</sup>

Het  $F_c$ -gedeelte van het intacte immunoglobulinemolecuul zorgt voor fixatie van complement bij CMC of voor binding aan  $F_c$ -receptoren op effectorcellen bij ADCC. Het gebonden complement respectievelijk de gebonden effectorcellen ontplooiën antitumoractiviteit. Verschillende antilichamen veroorzaken een dergelijke immunorespons, zoals T101 bij leukemie en T-cellymfoom, CAMPATH bij leukemie en B-cellymfoom, 17-1A bij colorectaal carcinoom en anti-p97 bij melanoom.<sup>29</sup> De beste klinische resultaten met passieve monoklonale antilichamentherapie zijn tot nu toe bereikt bij hematologische maligniteiten. Wellicht hebben patiënten met minimale tumorresten na een voorafgaande andere behandeling de meeste baat bij deze vorm van therapie. In dit kader moet de adjuvante behandeling met het monoklonale antilichaam 17-1A bij patiënten geopereerd wegens een lymfogeen gemetastaseerd colorectaal carcinoom worden vermeld.<sup>30</sup> De behandelde patiëntengroep toonde een lager percentage recidief van ziekte en een hoger overlevingspercentage dan de controlepatiëntengroep. Het onderzoek van deze adjuvante behandeling wordt met een enigszins gewijzigde opzet in Nederland herhaald. Een variant op de passieve therapie met 'kale' monoklonale antilichamen is de productie van bispecifieke antilichamen die enerzijds binden aan een tumorgeassocieerd antigeen en anderzijds aan een effectorcel die de tumor attaqueert.<sup>5 6</sup>

In het laboratorium wordt onderzocht of toepassing van monoklonale antilichamen gericht tegen groeifactorreceptoren op tumorcellen geschikt is als behandeling.<sup>6</sup> Deze receptoren binden bijvoorbeeld de epidermale groeifactor aanwezig bij meerdere carcinomen, bombesine bij kleincellig ongedifferentieerd bronchuscarcinoom en interleukine-2 bij T-celleukemie. De tumorcellen zouden niet meer kunnen prolifereren wanneer het antilichaam de receptor bezet. Klinisch onderzoek bevindt zich in een beginfase.

Bij patiënten worden soms antilichamen aangetroffen tegen de bindingsplaats op het voor de behandeling gebruikte antilichaam; deze antilichamen worden anti-idiotyp-antilichamen genoemd. De bindingsplaats van deze anti-idiotyp-antilichamen vertoont gelijkenis met het antigeen waartegen de behandeling was gericht. De anti-idiotyp-antilichamen kunnen zo als immunogeen worden gebruikt om een (humane) vaccin te bereiden, zodat de patiënt geïmmuniseerd kan worden tegen de eigen tumorcellen. Vaccins kunnen ook worden bereid uit humane B-cellen die anti-muizeantilichamen produceren als immunorespons op een eerder toegediend muizeantilichaam. De behandeling met humane monoklo-



nale anti-idiotypen-antilichamen bij patiënten geopereerd wegens een lokaal uitgebreid colorectaal carcinoom leidde tot een langdurige T-celimmunitet tegen het door antilichaam 17-1A herkende antigeen.<sup>31</sup> De klinische toepassing van vaccinatie zal voornamelijk in de adjuvante sfeer liggen.

Autologe beenmergtransplantaties bij patiënten met een gedissemineerde maligniteit houdt het risico in dat tumorcellen worden gereïnfundeerd. Ex vivo-‘purging’ van beenmerg (dat is het beenmerg vrijmaken van tumorcellen) kan worden uitgevoerd met monoklonale antilichamen waaraan bijvoorbeeld complement is toegevoegd. De methode is bewerkelijk en biedt geen garantie dat alle tumorcellen worden verwijderd. De invoering van perifere stamceltransfusies bij hoge-dosischemotherapie zal het risico van tumorcelreïfusie mogelijk verminderen.

#### CONCLUSIES

Monoklonale antilichamen vormen een onmisbaar instrument bij het aantonen van tumorgeassocieerde antigenen in tumorweefsel en op cellen. Veel antigenen zijn inmiddels van waarde gebleken bij de verbetering en de verfijning van de diagnose en bij het bepalen van het behandelbeleid. Specifieke tumorantigenen, zoals het product van het gemuteerde *p53*-suppressorgen, kunnen worden geïdentificeerd en gekarakteriseerd, waarna hun rol bij de prognose en de behandeling moet worden bepaald.

Tumormerkstoffen worden steeds meer geïntegreerd bij het volgen van het ziektebeloop en bij het vroegtijdig herkennen van recidivering van ziekte. In het algemeen hebben merkstoffen een te lage sensitiviteit om opgenomen te worden in een screeningsprogramma. Bij concentraties rond de drempelconcentratie dient nogal eens rekening te worden gehouden met een benigne oorzaak van een positieve testuitslag.

De technologie van radio-immunolokalisatie is de laatste jaren sterk verbeterd, vooral de keuze van het antilichaam, de labelingmethode voor het radionuclide en de apparatuur voor visualisatie. Bij het vastleggen van de uitbreiding van ziekte bij de patiënt kan radio-immunolokalisatie dienen als aanvulling op de bestaande niet-invasieve diagnostische procedures.

Therapie met immunoconjugaten heeft met veel problemen te kampen. Verbeteringen zijn bereikt door de ontwikkeling van chimerische antilichamen die minder aanleiding geven tot een immunorespons. Monoklonale antilichamen die circulerend antigeen herkennen, zoals anti-CEA-antilichamen, zijn minder geschikt voor therapie met immunoconjugaten. Voor behandelingen met radio-immunoconjugaten en enzymconjugaten plus prodrugs is niet vereist dat de antigene expressie heterogeen is, noch dat internalisatie van het antigeen plaatsvindt na binding met het antilichaam. Voor alle behandelingen met monoklonale antilichamen, zowel met immunoconjugaten als met kale antilichamen, en voor de behandelingen met vaccins geldt dat de beste resultaten mogen worden verwacht bij patiënten met minimale tumorresten en bij slechts microscopische ziekte.

#### LITERATUUR

- Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-7.
- Bolhuis RLH, Haaijman JJ. Nobelprijzen voor de Immunologie 1984. *Ned Tijdschr Geneesk* 1984;128:2433-5.
- Boven E, Pinedo HM. Monoclonal antibodies in cancer treatment: where do we stand after 10 years? *Radiother Oncol* 1986;5:109-17.
- Schlom J. Basic principles and applications of monoclonal antibodies in the management of carcinomas: the Richard and Hinda Rosenthal Foundation award lecture. *Cancer Res* 1986;46:3225-38.
- Waldmann TA. Monoclonal antibodies in diagnosis and therapy. *Science* 1991;252:1657-62.
- Goldenberg DM. Monoclonal antibodies in cancer detection and therapy. *Am J Med* 1993;94:297-312.
- Zuckier LS, Rodriguez LD, Scharff MD. Immunologic and pharmacologic concepts of monoclonal antibodies. *Semin Nucl Med* 1989;19:166-86.
- Nap M, Hammarström ML, Börner O, Hammarström S, Wagener C, Handt S, et al. Specificity and affinity of monoclonal antibodies against carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 1992;52:2329-39.
- Litvinov SV, Velders MP, Bakker HAM, Fleuren GJ, Warnaar SO. Ep-CAM: a human epithelial antigen is a homophilic cell-cell adhesion molecule. *J Cell Biol* 1994;125:437-46.
- Mattes MJ, Major PP, Goldenberg DM, Dion AS, Hutter RVP, Klein KM. Patterns of antigen distribution in human carcinomas. *Cancer Res* 1990;50 Suppl:880s-4s.
- Kenemans P, Yedema CA, Bon GG, Mensdorff-Pouilly S von. CA125 in gynecological pathology – a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1993;49:115-24.
- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JKC, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361-92.
- Matthews DC, Smith FO, Bernstein ID. Monoclonal antibodies in the study and therapy of hematopoietic cancers. *Curr Opin Immunol* 1992;4:641-6.
- Chang F, Syrjänen S, Syrjänen K. Implications of the *p53* tumor-suppressor gene in clinical oncology. *J Clin Oncol* 1995;13:1009-22.
- Magdelénat H. Tumour markers in oncology: past, present and future. *J Immunol Methods* 1992;150:133-43.
- Sell S. Detection of cancer by tumor markers in the blood: a view to the future. *Crit Rev Oncog* 1993;4:419-33.
- Maulard C, Toubert ME, Chretien Y, Delanian S, Dufour B, Housset M. Serum tissue polypeptide antigen (S-TPA) in bladder cancer as a tumor marker. A prospective study. *Cancer* 1994;73:394-8.
- Gaast A van der, Schoenmakers CHH, Kok TC, Blijenberg BG, Cornillie F, Splinter TAW. Evaluation of a new tumour marker in patients with non-small-cell lung cancer: Cyfra 21.1. *Br J Cancer* 1994;69:525-8.
- Nadali G, Vinante F, Stein H, Todeschini G, Tecchio C, Morosato L, et al. Serum levels of the soluble form of CD30 molecule as a tumor marker in CD30+ anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1995;13:1355-60.
- Haisma HJ, Pinedo HM, Kessel MAP, Muijen M van, Roos JC, Plai-zier MABD, et al. Human IgM monoclonal antibody 16.88: pharmacokinetics and immunogenicity in colorectal cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:1813-9.
- Boven E, Haisma HJ, Bril H, Martens HJM, Lingen A van, Hollander W den, et al. Tumour localisation with <sup>131</sup>I-labelled human IgM monoclonal antibody 16.88 in advanced colorectal cancer patients. *Eur J Cancer* 1991;27:1430-6.
- Jurcic JG, Scheinberg DA. Recent developments in the radio-immunotherapy of cancer. *Curr Opin Immunol* 1994;6:715-21.
- Trail PA, Willner D, Hellström KE. Site-directed delivery of antithyroglobulin for treatment of cancer. *Drug Developm Res* 1995;34:196-209.
- Hertler AA, Frankel AE. Immunotoxins: a clinical review of their use in the treatment of malignancies. *J Clin Oncol* 1989;7:1932-42.
- Mendelsohn J. Immunotoxins: prospects and problems. *J Clin Oncol* 1991;9:2088-90.

- <sup>26</sup> Deonarain MP, Epenetos AA. Targeting enzymes for cancer therapy: old enzymes in new roles. *Br J Cancer* 1994;70:786-94.
- <sup>27</sup> Bagshawe KD. Antibody-directed enzyme prodrug therapy: a review. *Drug Developm Res* 1995;34:220-30.
- <sup>28</sup> Haisma HJ, Muijen M van, Pinedo HM, Boven E. Comparison of two anthracycline-based prodrugs for activation by a monoclonal antibody-beta-glucuronidase conjugate in the specific treatment of cancer. *Cell Biophys* 1994;24/25:185-92.
- <sup>29</sup> Dillman RO. Antibodies as cytotoxic therapy. *J Clin Oncol* 1994;12:1497-515.

- <sup>30</sup> Riethmüller G, Schneider-Gädick E, Schlimok G, Schmiegel W, Raab R, Höffken K, et al. Randomised trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes' C colorectal carcinoma. *Lancet* 1994;343:1177-83.
- <sup>31</sup> Fagerberg J, Steinitz M, Wigzell H, Askelöf P, Mellstedt H. Human anti-idiotypic antibodies induced a humoral and cellular immune response against a colorectal carcinoma-associated antigen in patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4773-7.

Aanvaard op 14 augustus 1995

## Oorspronkelijke stukken

# Glucose-intolerantie bij ouderen in Nederland; het Twello-onderzoek

P.V.M.CROMME, J.TH.M.VAN EIJK, E.A.VAN DER VEEN, J.J.P.NAUTA EN J.A.KNOTTNERUS

De Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) publiceerde in 1985 een nieuwe indeling van glucosestofwisselingsstoornissen met nieuwe criteria voor de diagnostiek en exacte definities betreffende de testprocedures.<sup>1</sup> De WHO schat het aantal patiënten met diabetes mellitus mondiaal op 30 miljoen, van wie ongeveer 80% niet van insuline afhankelijke diabetes mellitus (diabetes mellitus II; NIDDM) heeft en 20% wel van insuline afhankelijke diabetes mellitus (type I; IDDM).<sup>1</sup>

De prevalentie van glucosestofwisselingsstoornissen en de daarmee gepaard gaande morbiditeit en sterfte wisselen sterk over de gehele wereld, afhankelijk van onder meer ras, omgevingsfactoren en leefstijl. De gerapporteerde prevalentie van diabetes type II varieert van 1% in Papoea Nieuw-Guinea tot 25% bij Pima-indianen.<sup>2-4</sup>

De prevalentie van diabetes mellitus neemt in absolute zin volgens de WHO toe. Bovendien is het aantal personen bij wie diabetes mellitus gediagnostiseerd is de helft of minder van de werkelijke prevalentie.<sup>1,5</sup> De prevalentie van type II-diabetes is hoger op oudere leeftijd. Bij personen boven de 64 jaar worden prevalenties gerapporteerd van 11-50%.<sup>4,6,7</sup>

De laatste decennia is gebleken dat het ontstaan van met chronische hyperglykemie samenhangende aandoeningen kan worden vertraagd en soms kan worden voorkomen door een goede instelling van de bloedglucose-spiegels.<sup>8,9</sup> Voor Nederland ontbraken ten tijde van dit onderzoek prevalentiecijfers van glucosestofwisselingsstoornissen, gebaseerd op de criteria van de WHO uit 1985. Dit was de aanleiding tot een onderzoek naar het aantal personen met glucosetolerantiestoornissen op

Zie ook het artikel op bl. 2543.

## SAMENVATTING

**Doel.** Bepalen van de prevalentie van verschillende graden van glucose-intolerantie bij personen van 65 jaar en ouder.

**Opzet.** Puntprevalentie-onderzoek.

**Plaats.** Twello.

**Methoden.** Uit één huisartsengroepspraktijk ondergingen in 1985 460 van 696 personen  $\geq$  65 jaar eenmalig een orale glucosetolerantietest (OGTT); bij 56 was eerder de diagnose 'diabetes mellitus type II' gesteld. De OGTT-resultaten werden geclassificeerd volgens de richtlijnen van de Wereldgezondheidsorganisatie uit 1985.

**Resultaten.** De prevalentie van normale glucosetolerantie was 42%, van verminderde glucosetolerantie 27% en van diabetes mellitus 31%, volgens de WHO-criteria van 1985. Na correctie voor eventuele vertekening door een eerdere diagnose 'diabetes mellitus' op grond van verouderde criteria en gestandaardiseerd voor de Nederlandse bevolkingssamenstelling per 1 januari 1995 waren de schattingen respectievelijk afgerond 45% (95%-betrouwbaarheidsinterval: 44,4-44,6), 28% (28,3-28,5) en 27% (27,1-27,2). Herbeoordeling van eerder gestelde diagnoses volgens de nieuwe richtlijnen leerde dat in 55% van de gevallen de diagnose 'diabetes mellitus' verviel bij degenen die alleen dieet gebruikten als therapie. De prevalentie van diabetes mellitus was 10% in de praktijkpopulatie ouder dan 64 jaar voordat het onderzoek plaatsvond en werd nadien geschat op 30%.

**Conclusies.** Het op grond van de resultaten geschatte aantal personen met diabetes mellitus in Nederland in 2005 was 3,6 maal zo hoog in vergelijking met de schatting van de Stuurgroep Toekomstscenario's Gezondheidszorg. Het bewust opsporen van glucose-intolerantie bij personen ouder dan 64 jaar met een verhoogd risico voor glucosetolerantiestoornissen verdient aanbeveling.

Vrije Universiteit, Amsterdam.

Vakgroep Huisarts- en Verpleeghuisgeneeskunde: dr.P.V.M.Cromme, huisarts, Twello; prof.dr.J.Th.M.van Eijk, socioloog-methodoloog.

Vakgroep Interne Geneeskunde: prof.dr.E.A.van der Veen, internist.

Vakgroep Theorie der Geneeskunde: drs.J.J.P.Nauta, statisticus.

Rijksuniversiteit Limburg, vakgroep Huisartsgeneeskunde, Maastricht.

Prof.dr.J.A.Knottnerus, arts-epidemioloog.

Correspondentie-adres: dr.P.V.M.Cromme, Postbus 183, 7390 AD Twello.

een bepaald moment in de tijd, een puntprevalentie-onderzoek, met als doel de prevalentie te bepalen van glucosetolerantiestoornissen in de onderzochte populatie en een schatting te maken van de prevalentie in de bronpopulatie.